

Title	Studies on the physiological and morphological natures of repetitive LTP-induced synaptic enhancement
Author(s)	大江, 祐樹
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59363
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	大 江 祐 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (理学)
学 位 記 番 号	第 2 5 4 4 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学 位 論 文 名	Studies on the physiological and morphological natures of repetitive LTP-induced synaptic enhancement (繰り返しLTP誘発後のシナプス強化現象の生理学のおよび形態学的解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 小倉 明彦 (副査) 教 授 藤田 一郎 教 授 河村 悟 教 授 北澤 茂

論 文 内 容 の 要 旨

記憶の細胞基盤は、シナプス伝達が活動履歴によって変化する「シナプス可塑性」であると考えられている。シナプス可塑性の機構解析は、齧歯類脳海馬の急性切片におけるLTP (Long-Term Potentiation; 高頻度活動後の伝達効率増強現象)を有力なモデル実験系として、詳細に解析されてきた。しかし、動物個体での多くの記憶・学習実験では、長期記憶が成立するためには脳回路の繰り返し活性化が必要であることが一般的に知られている。私の所属する研究室では、LTPを3回以上繰り返し誘発すると、その後新規シナプスの形成を伴いながら、再びゆっくりとシナプス伝達が強化され、その強化状態が3週間以上にわたって維持されることを発見した。そこで、この繰り返しLTP誘発後のシナプス強化 (RISE; Repetitive-LTP-Induced Synaptic Enhancement) が、繰り返し依存的な記憶の維持過程、すなわち長期記憶の成立機構解析のためのモデル実験系になると期待し、さらに解析を進めてきた。

私は、RISEのシナプス強化につながるニューロンの形態変化が、どのような過程を経ながら進むかについて検討するため、同一細胞を経時的に追跡することを試みた。これまでのRISE研究では、免疫組織化学にせよ色素微小注入にせよ、あるいは電顕観察にせよ、すべて標本を固定して観察し、その結果を時系列に沿って並べる形でしか検討してこなかった。

具体的には、蛍光タンパク質YFPをまばらに発現するThy1-YFP Hlineマウスの海馬培養切片系を用い、繰り返しフォルスコリン暴露が誘発する新規スパイン形成過程を共焦点レーザー顕微鏡にて観察を行った。その結果、繰り返しFK暴露後0 - 3日目はスパイン密度に変化がなく、6日目以降にスパイン密度が上昇していた。次に、このスパイン密度増加の潜伏期間に何が起こっているか調べるため、繰り返しLTP後のスパインターンオーバーを解析した。その結果、スパインターンオーバーはフォルスコリン暴露後0 - 3日目ですでに増加していることが分かったが、スパインの出現・消失が同じ割合で増加しており、結果としてスパイン密度には変化が現れなかったと考えられる。しかし、暴露後3 - 6日の間はスパインの出現がさらに高まっていたのに対し、消失は元のレベルに戻っていた。この出現・消失の不均衡がスパイン密度の増加として現れたと考えられる。スパインの出現・消失はシナプスの接続組み換えが盛んに行われていると考えられることができ、0 - 3日後ではシナプスのリモデリングが盛んに起きていることが示唆される。また、3 - 6日後はシナプスリモデリングにより不安定な状態になっている回路を強化している可能性が考えられる。

大江祐樹君は、当研究室で発見した新規シナプス可塑性現象”RISE”について、その生理学のおよび形態学的な解析を行った。

RISE（Repetitive LTP-Induced Synaptic Enhancement）とは、長期安定培養下にある海馬切片に、繰り返しLTP（長期増強現象）を誘発した後に発達する伝達強化現象を指す。このとき新規シナプス形成が起こって、少なくとも数週間以上、強化状態が持続する。当研究室では、この現象を、記憶固定の細胞基盤解析のための優れたモデル系として提唱しているが、いくつかの未実証点があり、解決を求められていた。

その一つが入力特異性である。大江君は、培養切片にナイフカットを入れて入力経路を二分し、うち一方にのみLTPを誘発して、その後の効果を膜電位感受性色素イメージング法で空間網羅的に観測するという巧妙な方法で、入力特異性を実証した。

もう一つは経時的追跡で、従来は多数の固定標本の統計的な比較によってシナプス新生を論じていたのに対し、大江君は、同一ニューロンの形態を共焦点蛍光顕微鏡を用いて長期にわたって観測することで、樹状突起棘（シナプス後構造）が確かに増加してゆくことを実証した。また、このとき、棘密度のネットの増加に先立って、棘新生と棘廃止が両者とも増加する時期があることや、棘密度の増加の起こりやすい樹状突起と起こりにくい樹状突起のあること、それが刺激前の既存の棘密度と相関することなど、多数の新知見をえた。

これらの業績は、記憶の細胞基盤の解明に重要な寄与を成したといえ、博士の学位授与に値する。